

UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

2^{ème} année LMD



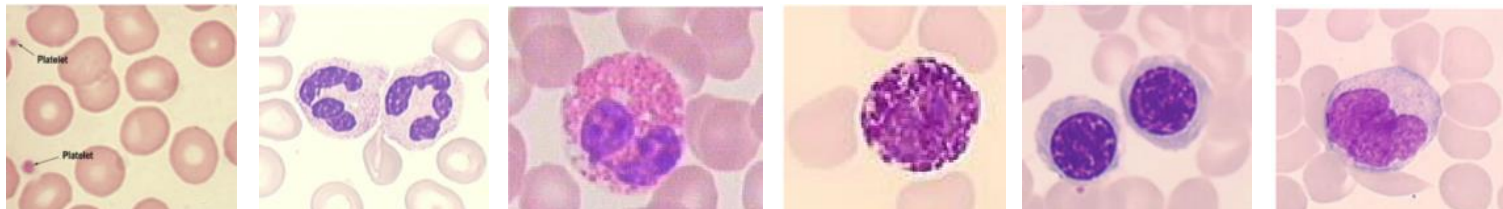
Module : Immunologie générale



TD N°= 2

CELLULES IMMUNITAIRES

(Frottis sanguin et colorations de May-Grünwald, Giemsa)



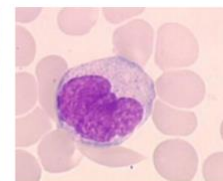
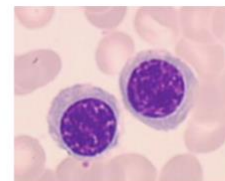
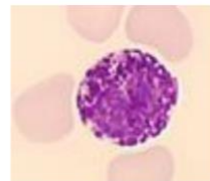
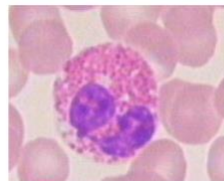
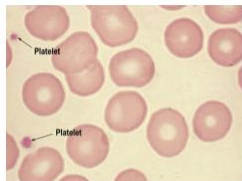
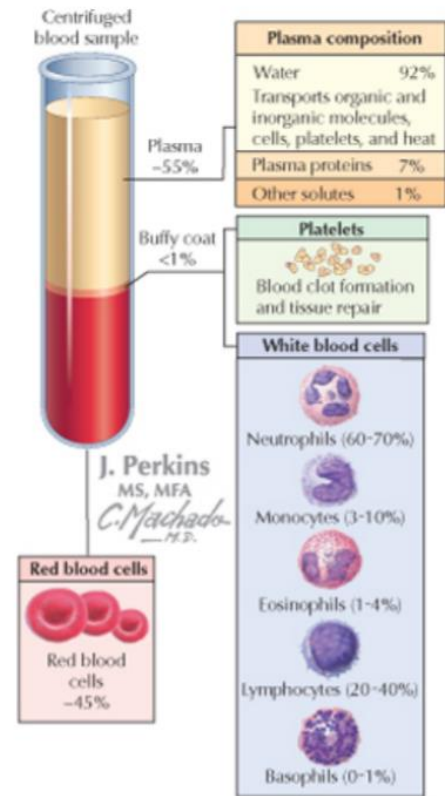
I- Introduction

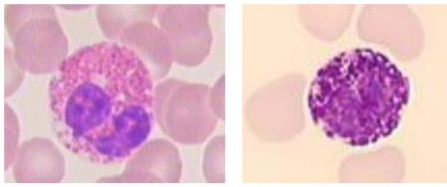


□ Le **sang** est constitué du **plasma** et des **cellules sanguines** : **hématies** et **leucocytes**

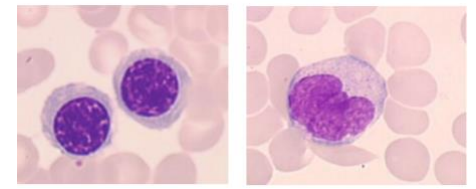
TABLE 2-3 NORMAL ADULT BLOOD-CELL COUNTS

Cell type	Cells/mm ³	%
Red blood cells	5.0×10^6	
Platelets	2.5×10^5	
Leukocytes	7.3×10^3	
Neutrophil		50–70
Lymphocyte		20–40
Monocyte		1–6
Eosinophil		1–3
Basophil		<1





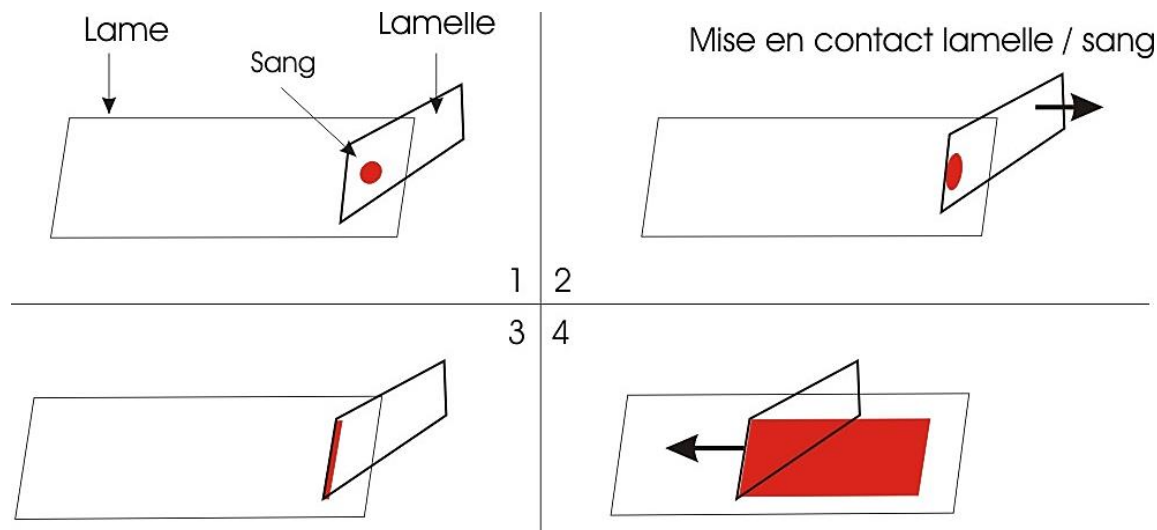
I- Introduction



- ❑ Les **globules blancs (leucocytes)** sont des cellules produites dans la moelle osseuse et sont présents dans le **sang** et le **tissu lymphatique**. Ils constituent le **S.I** et jouent un rôle important dans la protection de notre organisme contre les maladies infectieuses et les substances étrangères.
- ❑ Les leucocytes se divisent en deux catégories : les **granulocytes** et les **cellules lymphoïdes**.
- ❑ En effet, ces granules ont des **affinités différentes** à l'égard des **colorations neutres, acides ou basiques**, et donnent au cytoplasme des couleurs différentes. Ainsi, on distingue les granulocytes entre les neutrophiles, les éosinophiles et les basophiles, tandis qu'on distingue les cellules lymphoïdes entre les lymphocytes et les monocytes par la **forme du noyau** qui aide elle aussi à distinguer entre les lymphocytes et monocytes.

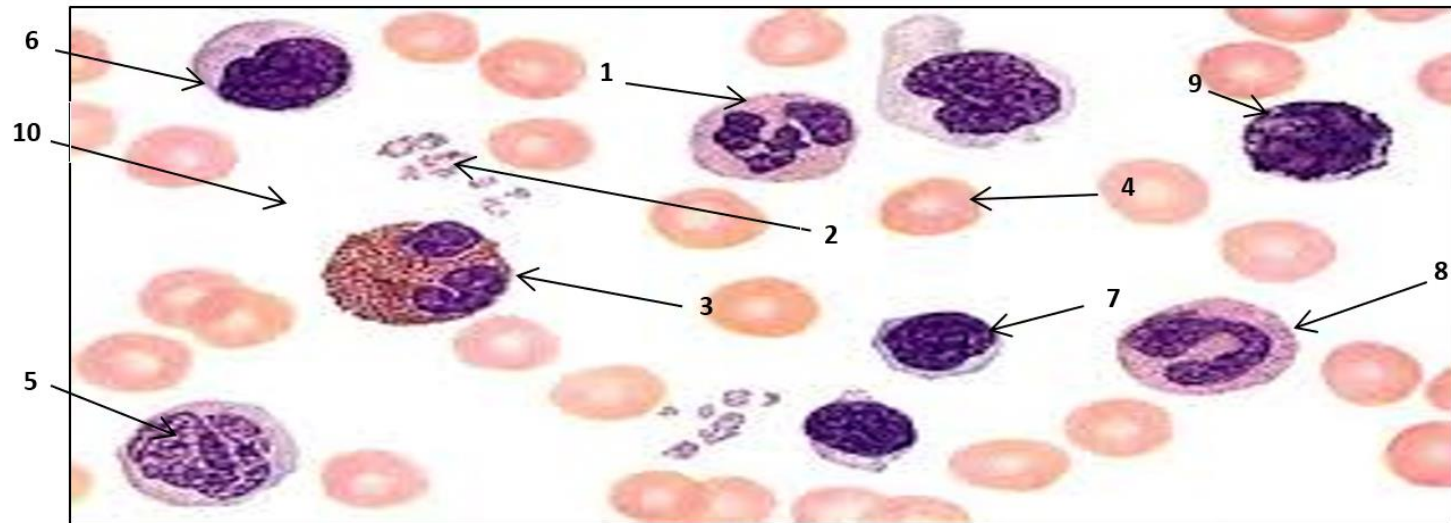
Frottis sanguin

- ❑ Le frottis sanguin est un **étalement d'une goutte de sang uniformément** sur une lame de verre, de manière à obtenir **une seule couche de cellules**, qui après **coloration** et **fixation**, pourra permettre d'effectuer l'étude morphologique des éléments figurés du sang (évaluer la taille et la forme des érythrocytes, l'aspect et la différenciation des leucocytes) et de déterminer s'il y a anomalies de présence, d'aspect ou de nombre de cellules, par ex. détecter les parasites (la malaria).



Exercice 1

- Quel le principe de la coloration May Grünwald-Giemsa
- Quels sont les cibles de coloration MGG dans la cellule? Donner des exemples
- Sur ce frottis observés sous le microscope optique, recopier le tableau au-dessous et dans lequel renommez les cellules sanguines et déterminez leurs principales caractéristiques morphologiques (taille, forme du noyau et la présence ou l'absence de granulation).



Principe de la coloration au May-Grünwald, Giemsa

Il repose sur l'action combinée de deux **colorants neutres** :

- Le **May-Grünwald**, contenant un **colorant acide**, l'**éosine**, et un colorant basique, le **bleu de méthylène**.
- Le **Giemsa**, contenant lui aussi de l'**éosine**, et un colorant basique, l'**azur de méthylène**. Ces deux colorants sont en solution dans l'**alcool méthylique** sous forme inactive.
- Le mécanisme de la coloration au MGG ; il combine l'action de **colorants acides** (comme l'éosine), qui se fixent sur les **structures basiques** dites acidophiles (comme les protéines basiques stockées dans les granules ainsi le cytosol est coloré en **rose orangé** par l'éosine), et de **colorants basiques** comme le bleu de méthylène qui se fixent sur les structures acides dites **basophiles** (protéines acides et ADN, ainsi le noyau est coloré en **bleu**).

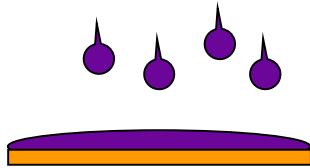
Coloration du frottis

On peut déposer les colorants sur les lames disposées à plat ou plonger les lames verticalement dans un bac à coloration :

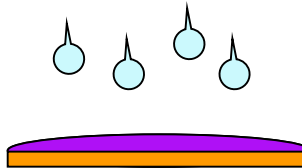
✓ **Fixation et coloration au May-Grünwald**

- Placer la lame du frottis sur un support horizontal au-dessus d'un bac de coloration.
- Recouvrir entièrement le frottis sanguin de la solution de May-Grünwald et laisser agir 3 minutes.
- Diluer en y ajoutant une égale quantité d'eau tamponnée pH=7 (ou l'eau distillée) et laisser agir 2 minutes.
- Rejeter le colorant par un jet d'eau distillée

Fixation au May Grünwald pur 3 minutes



Diluer le May Grünwald 2 minute

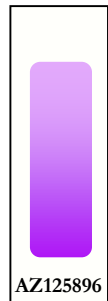


✓ **Coloration au Giemsa dilué**

- Recouvrir le frottis d'une solution de Giemsa dilué au 1/10 préparé extemporanément (1 vol. de Giemsa + 9 vol. d'eau tamponnée) et laisser agir 15 à 20 minutes
- Rincer abondamment à l'eau distillée

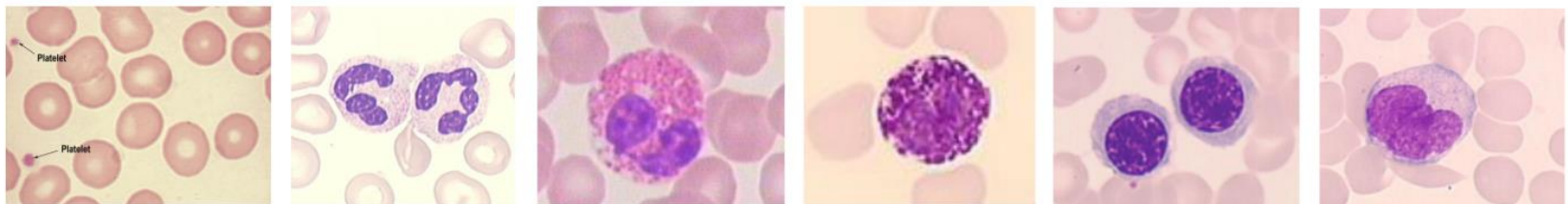
✓ **Séchage**

- Laisser sécher la lame à l'abri des poussières, en position inclinée, après avoir essuyé la face inférieure de la lame avec du papier absorbant.
- Attendre au moins 5 minutes avant l'examen microscopique du frottis.

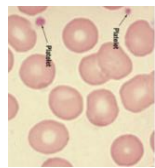


Cibles de coloration MGG dans la cellule

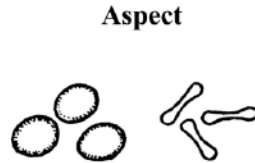
- Les constituants cellulaires acides (ADN, protéine acide) fixeront sélectivement les **colorants basiques**. Ces éléments sont qualifiés de **basophiles**
- Les constituants cellulaires basiques (cas de l'hémoglobine, protéine basique contenue dans les hématies et les granulations des éosinophiles) fixeront électivement les colorants acides. Ces éléments sont qualifiés d'**acidophiles** ou d'**éosinophiles**
- Les constituants fixant les deux types de colorants sont dits **neutrophiles**.



Critères de classification des différentes populations



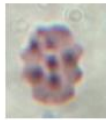
Erythrocytes
ou hématies
ou globules rouges



Nombre
4 500 000
à 5 000 000
par mm³

Taille
7 μm

- les plus abondants
- dépourvus de noyau
- forme de disque biconcave



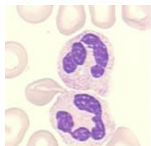
Thrombocytes
ou plaquettes



200 000
à 400 000
par mm³

3,5 μm

- fragments cytoplasmiques discoïdes
- granulations mauves azurophiles



Leucocytes polymorphonucléaires
ou granulocytes



Neutrophile 50 à 70 %

10 à 15 μm



Eosinophile 1 à 3 %

10 à 15 μm

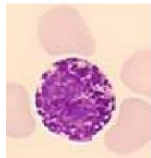


Basophile 0,5 à 1 %

10 à 12 μm

6 000
à 8000
par mm³

- noyau formé de plusieurs lobes (2 à 5 lobes)
- cytoplasme à nombreuses granulations

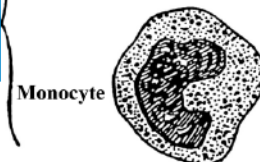


Leucocytes non polymorphonucléaires
ou agranulocytes



Lymphocyte 25 %

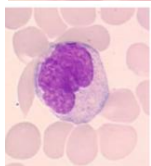
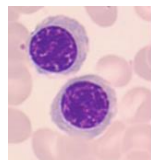
6 à 12 μm

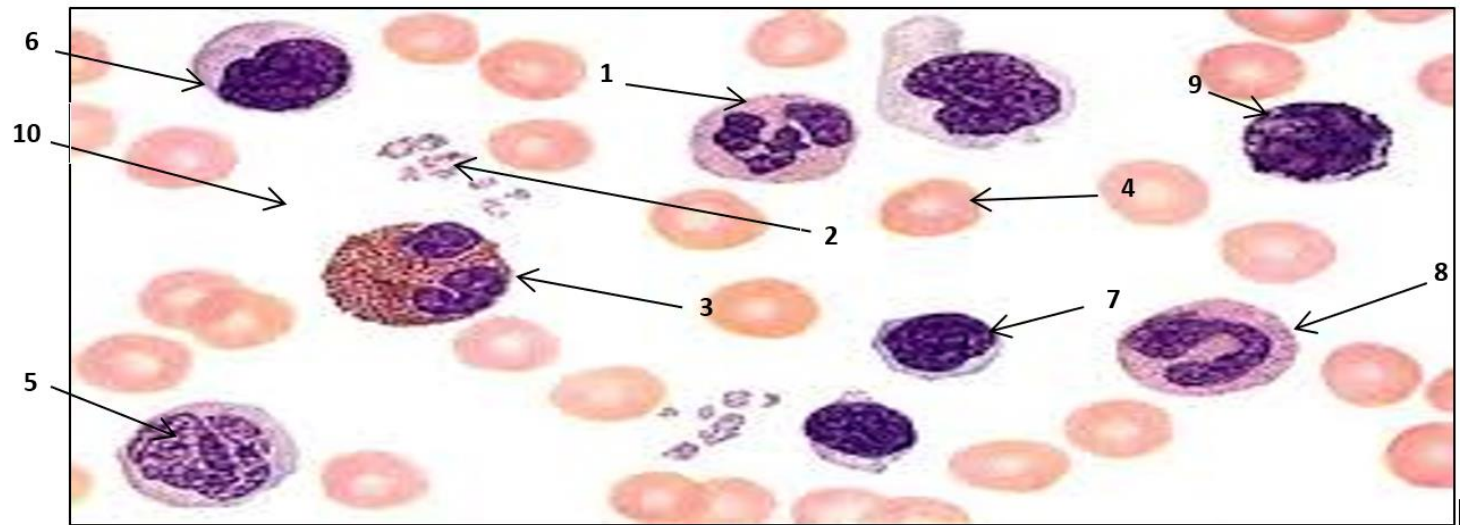


Monocyte 10 %

15 à 35 μm

- noyau d'un seul tenant
- cytoplasme sans granulations



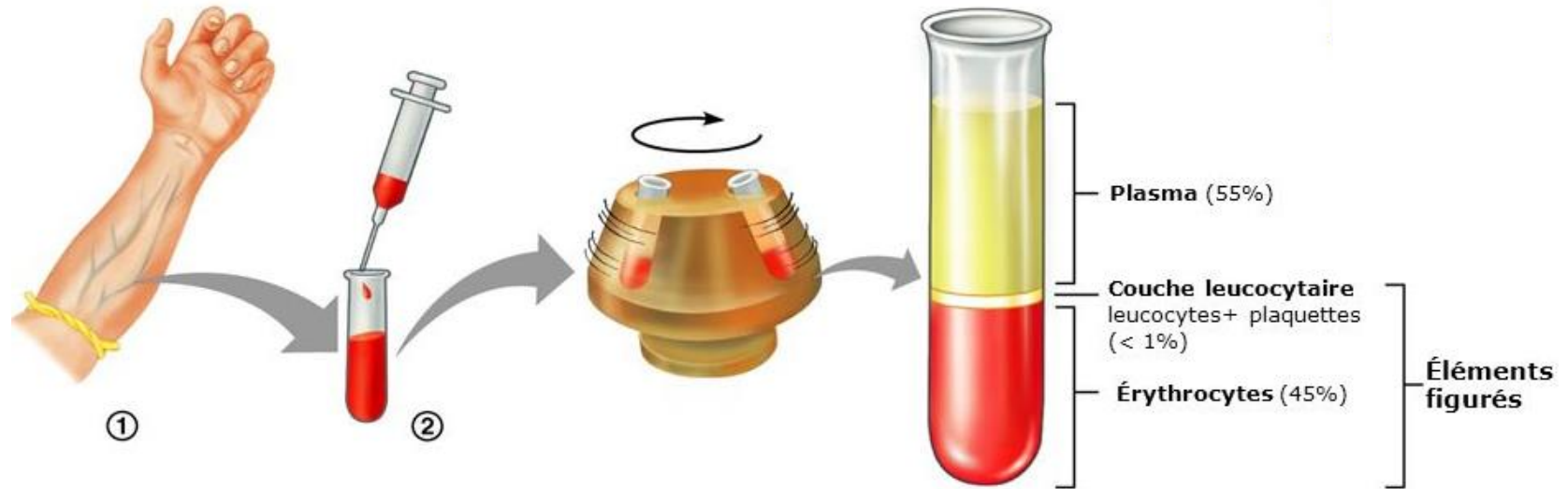


	Cellule		Cellule
1	Granulocyte neutrophile	6	Monocyte
2	Plaquettes	7	Lymphocyte
3	Granulocyte éosinophiles	8	
4	Hématie	9	Granulocyte basophile
5		10	Plasma

Rq : voir la diapo précédente pour les principales caractéristiques morphologiques (taille, forme du noyau et la présence ou l'absence de granulation).

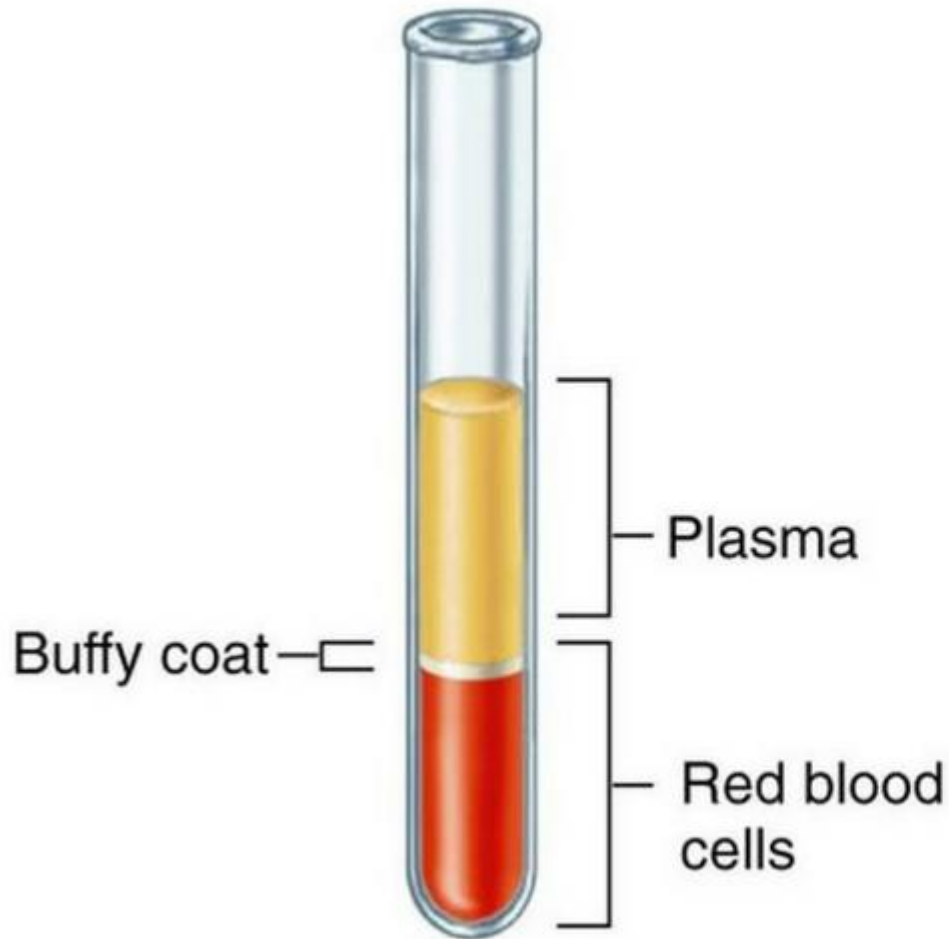
Exercice 2

- **Le plasma** est le constituant liquidien du sang, de couleur jaune clair dans lequel baignent les cellules sanguines. Le plasma contient des sels minéraux et des composants organiques (incluant des acides aminés, des lipides, des vitamines, des protéines et des hormones).

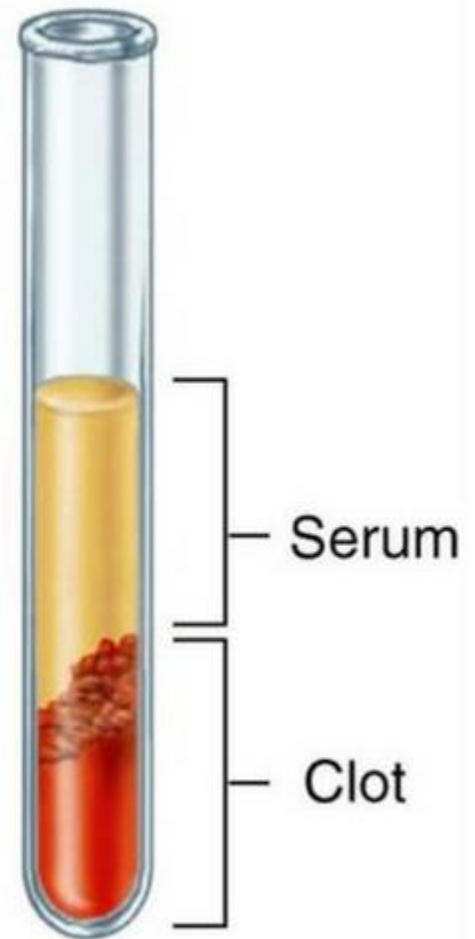


- En l'absence d'anticoagulants, les éléments cellulaires du sang forment, avec les protéines plasmatiques (principalement le **fibrinogène**), un caillot dans le tube de prélèvement. La partie liquidienne est appelée **sérum** et correspond essentiellement à du **plasma dépourvu de fibrinogène**.

Blood Plasma vs Blood Serum

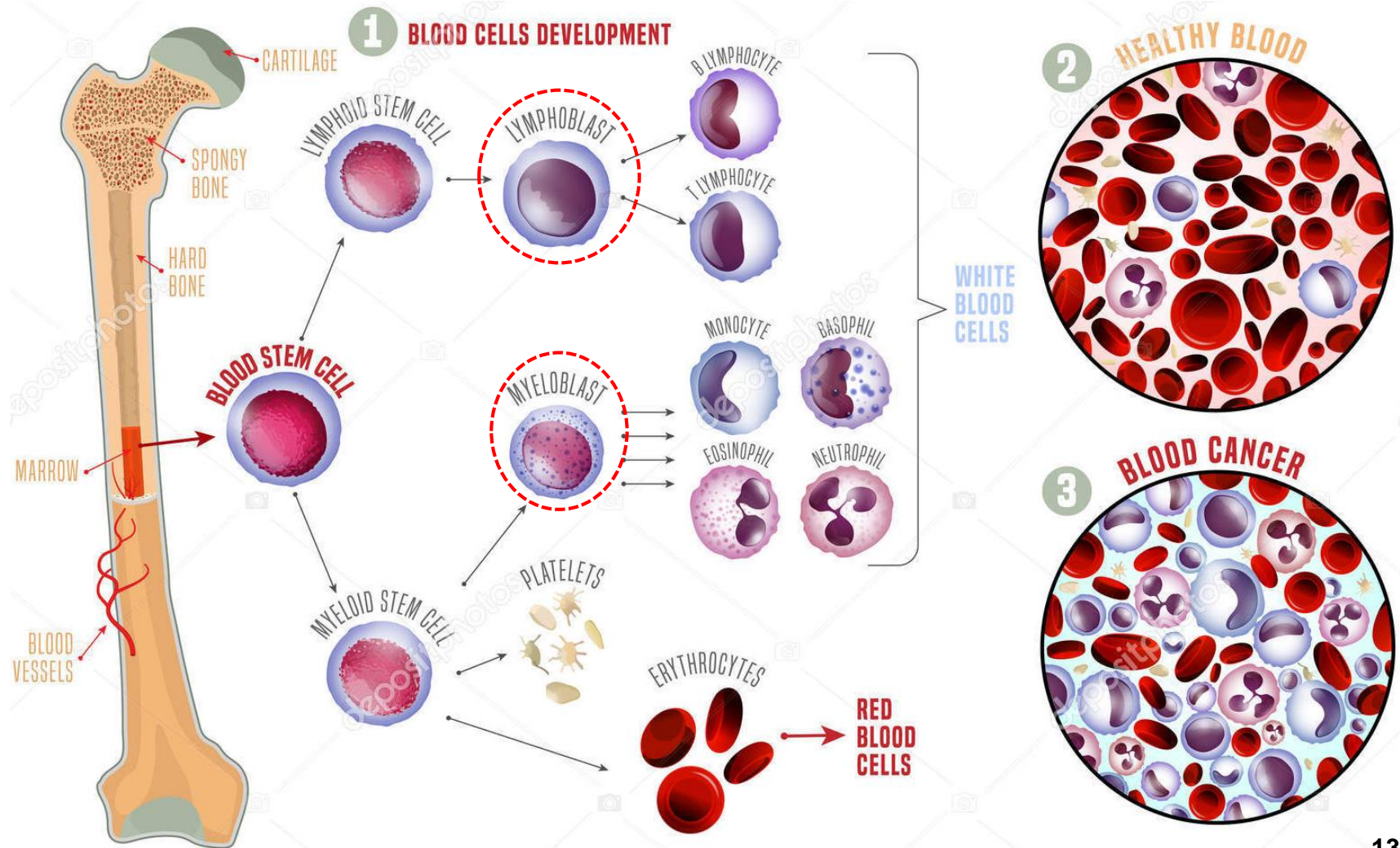


(a) **Unclotted Whole Blood**



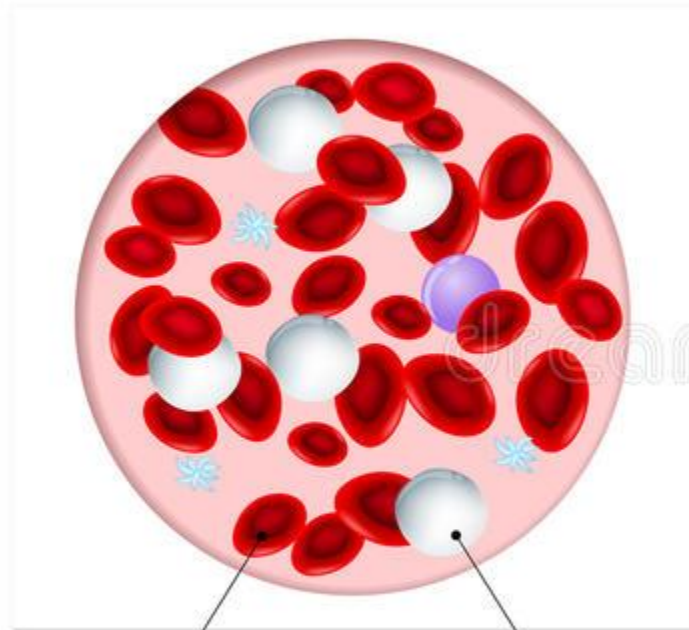
(b) **Clotted Whole Blood**

➤ **La leucémie** ou **cancer du sang** est une maladie qui se caractérise par une **augmentation anormale** du nombre de **globules blancs** ou Leucocytes. En se développant, les **cellules souches du sang** deviennent des **cellules blastiques** (blastes), qui sont des **cellules sanguines immatures**



- **L'anémie** est l'état d'un malade qui souffre d'un **manque d'hémoglobines** dû à une **insuffisance d'hématies** dans le sang.

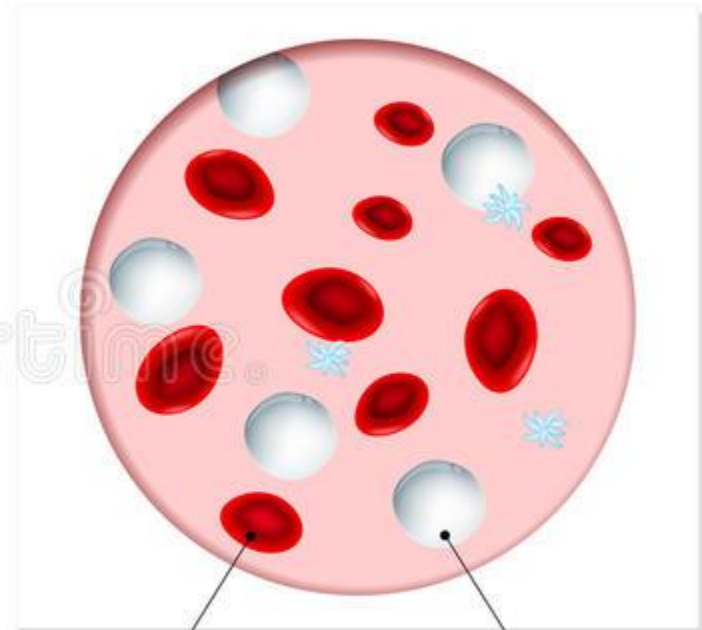
Normal



Red blood cell

White blood cell

Anemia

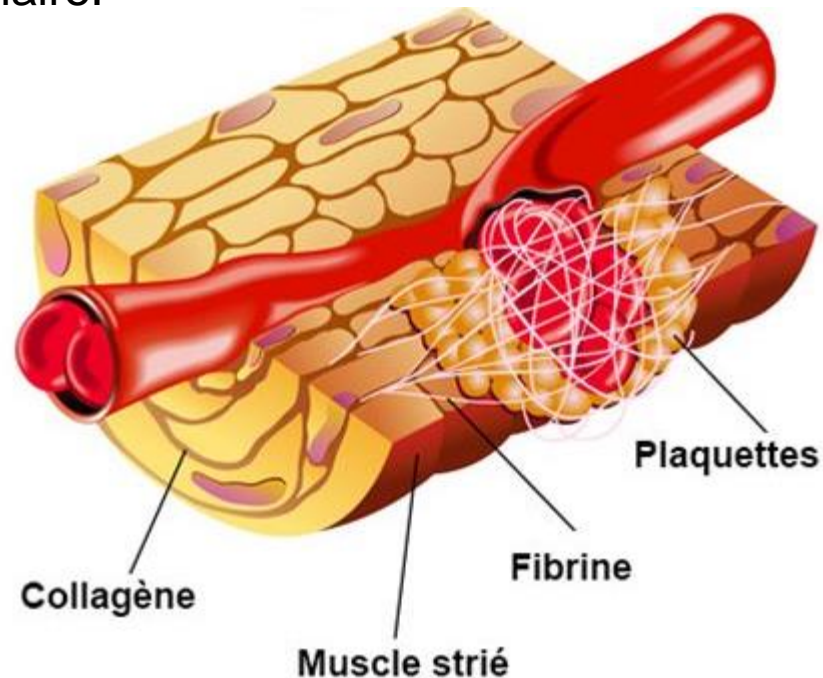


Red blood cell

White blood cell

- **La coagulation** est une réaction normale de l'organisme dont le but est la formation d'un **caillot** qui sert à stopper une **hémorragie** à la suite d'une brèche dans un vaisseau sanguin. C'est un phénomène essentiel dans la protection du système vasculaire.

Coagulation



- Les plaquettes et des cellules endommagées libèrent des **facteurs de coagulation**, qui entraînent des réactions aboutissant au final à la transformation du **fibrinogène** en **fibrine**. La conversion du fibrinogène en fibrine est catalysée par une enzyme, la **thrombine**.

Exercice 3

➤ Repondre par vrai ou faux

1. **Le sang** n'est composé que du plasma, des globules rouge et des leucocytes.

(Faux)

2. **La coagulation** permet de connaitre la composition du sang. **(Faux)**

3. **L'hémophilie** est une maladie appelée également le cancer du sang. **(Faux)**

4. **L'anémie** est une maladie due à une augmentation du nombre de globules blancs. **(Faux)**

5. **Les macrophages** et les **mastocytes** sont des cellules sanguines. **(Faux)**

6. **Les lymphocytes NK** et les **monocytes** sont des cellules circulantes dans le sang **(Vrai)**

